

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
PCT
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5 : C11D 3/386	A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 92/11347 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 9. Juli 1992 (09.07.92) (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP91/02340 (22) Internationales Anmeldedatum: 6. Dezember 1991 (06.12.91) (30) Prioritätsdaten: 24. Dezember 1990 (24.12.90) DE P 40 41 752.2 (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN [DE/DE]; Henkelstraße 67, D-4000 Düsseldorf 13 (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US) : PAWELCZYK, Hubert [DE/DE]; Alt Eller 23, D-4000 Düsseldorf (DE). RÄHSE, Wilfried [DE/DE]; Bahlenstraße 168, D-4000 Düsseldorf 13 (DE). CARDUCK, Franz-Josef [DE/DE]; Landstraße 18, D-5657 Haan (DE). KÜHNE, Norbert [DE/DE]; Dürerstraße 63, D-5657 Haan (DE). RUNGE, Volker [DE/DE]; Am Feldkoth 23, D-4030 Ratingen (DE). UPADEK, Horst [DE/DE]; Im Sandforst 26, D-4030 Ratingen (DE). (74) Gemeinsamer Vertreter: HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN; TFP-Patentabteilung, Henkelstraße 67, D-4000 Düsseldorf 13 (DE). (81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), LU (europäisches Patent), MC (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), US. Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>
--	-----------	--

(54) Title: ENZYME PREPARATION FOR WASHING AND CLEANSING AGENTS

(54) Bezeichnung: ENZYMZUBEREITUNG FÜR WASCH- UND REINIGUNGSMITTEL

(57) Abstract

In the production of enzyme granulates with grain sizes from 0.1 to 2 mm, containing 2 to 20 % wt. proteases, lipases, amylases and/or cellulases, 10 to 50 % wt. swellable starch, 5 to 50 % wt. granulating agent, 3 to 12 % wt. water and not more than 10 % wt. water-soluble salt, by extruding an enzyme pre-mixture obtained by mixing a fermentation liquor cleared of insoluble components and concentrated with additives and spheroidizing the extrudate in a rounder, the use of relatively highly concentrated fermentation liquors has previously been necessary. By removing the insoluble components from the fermentation liquor by micro-filtration and mixing with additives which, in relation to the finished granulate, contains 10 to 35 % wt. cereal flour, it is possible, by the use of low-concentration fermentation liquors, to obtain highly active enzyme granulates with a long shelf life which are suitable for inclusion in washing and cleansing agents and are distinguished by uniform solubility properties in aqueous washing and cleansing baths.

(57) Zusammenfassung

Bei der Herstellung von Enzymgranulaten mit Korngrößen von 0,1 mm bis 2 mm, die 2 Gew.-% bis 20 Gew.-% Protease, Lipase, Amylase und/oder Cellulase, 10 Gew.-% bis 50 Gew.-% quellfähige Stärke, 5 Gew.-% bis 50 Gew.-% Granulierhilfsmittel, 3 Gew.-% bis 12 Gew.-% Wasser und nicht über 10 Gew.-% wasserlösliches Salz enthalten, durch Extrudieren eines durch Vermischen einer von unlöslichen Bestandteilen befreiten und aufkonzentrierten Fermentationsbrühe mit Zuschlagstoffen entstandenen Enzym-Vorgemisches und Sphäronisierung des Extrudats in einem Rondiergerät ist bisher der Einsatz relativ hochkonzentrierter Fermentationsbrühen erforderlich. Durch Entfernen der unlöslichen Bestandteile aus der Fermentationsbrühe durch Mikrofiltration und Vermischen mit einem Zuschlagstoffgemisch, das, bezogen auf fertiges Granulat, 10 Gew.-% bis 35 Gew.-% Getreidemehl enthält, gelingt es, bei Einsatz niedrigkonzentrierter Fermentationsbrühen hochaktive und lagerbeständige Enzymgranulate zu erhalten, die für die Einarbeitung in Wasch- und Reinigungsmittel geeignet sind und sich durch ein gleichmäßiges Lösungsverhalten in wässrigen Wasch- und Reinigungsflotten auszeichnen.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	ES	Spanien	ML	Mali
AU	Australien	FI	Finnland	MN	Mongolei
BB	Barbados	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BE	Belgien	GA	Gabon	MW	Malawi
BF	Burkina Faso	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BG	Bulgarien	GN	Guinea	NO	Norwegen
BJ	Benin	GR	Griechenland	PL	Polen
BR	Brasilien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
CA	Kanada	IT	Italien	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SE	Schweden
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SU ⁺	Soviet Union
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TC	Togo
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE	Deutschland	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		

+ Die Bestimmung der "SU" hat Wirkung in der Russischen Föderation. Es ist noch nicht bekannt, ob solche Bestimmungen in anderen Staaten der ehemaligen Sowjetunion Wirkung haben.

"Enzymzubereitung für Wasch- und Reinigungsmittel"

Die Erfindung betrifft ein Enzymgranulat, ein Verfahren zu seiner Herstellung und die Verwendung des Granulats in festen Wasch- und Reinigungsmitteln.

Enzyme, insbesondere Proteasen, finden ausgedehnte Verwendung in Wasch-, Waschhilfs- und Reinigungsmitteln. Üblicherweise kommen die Enzyme dabei nicht als Konzentrate, sondern in Mischungen mit einem Verdünnungs- und Trägermaterial zum Einsatz. Mischt man solche Enzymzubereitungen üblichen Waschmitteln bei, so kann beim Lagern ein erheblicher Abbau der Enzymaktivität eintreten, insbesondere wenn bleichaktive Verbindungen zugegen sind. Das Aufbringen der Enzyme auf Trägersalze unter gleichzeitiger Granulation gemäß der deutschen Offenlegungsschrift DT 16 17 190 beziehungsweise durch Aufkleben mit nichtionischen Tensiden gemäß der deutschen Offenlegungsschrift DT 16 17 118 oder wäßrigen Lösungen von Celluloseethern gemäß der deutschen Offenlegungsschrift DT 17 87 568 führt nicht zu einer nennenswerten Verbesserung der Lagerstabilität, da sich die empfindlichen Enzyme in solchen Aufmischungen in der Regel auf der Oberfläche der Trägersubstanz befinden. Zwar kann die Lagerstabilität der Enzyme wesentlich erhöht werden, wenn man die Enzyme mit dem Trägermaterial umhüllt beziehungsweise in dieses einbettet und anschließend durch Extrudieren, Pressen und Marumerisieren in die gewünschte Partikelform überführt, wie zum Beispiel in der deutschen Patentschrift DE 16 17 232, der deutschen Offenlegungsschrift DT 20 32 768, und den deutschen Auslegeschriften DE 21 37 042 und DE 21 37 043 beschrieben. Derartige Enzymzubereitungen besitzen jedoch nur mangelhafte Löslichkeitseigenschaften. Die ungelösten Partikel können sich im Waschgut verfangen und dieses verunreinigen bzw. sie werden ungenutzt in das Abwasser überführt. Aus der deutschen Offenlegungsschrift DT 18 03 099 bekannte Einbettungsmittel, die aus einem Gemisch fester Säuren beziehungsweise saurer Salze und Carbonaten beziehungsweise Bicarbonaten bestehen und bei Wasserzusatz zerfallen, verbessern zwar das Lösungsvermögen, sind aber ihrerseits sehr empfindlich gegen Feuchtigkeit und erfordern daher zusätzliche Schutzmaßnahmen.

...

Ein weiterer Nachteil der vorgenannten Zubereitung ist darin zu sehen, daß die Enzyme nur in Form trockener Pulver verarbeitet werden können. Die üblicherweise bei der Enzymherstellung anfallenden Fermentbrühen lassen sich in dieser Form nicht einsetzen, sondern müssen zuvor entwässert werden. An diese Voraussetzung sind auch solche Verfahren gebunden, bei denen ausschließlich leicht lösliche Trägermaterialien, wie Zucker, Stärke und Celluloseether als Bindemittel zur Herstellung von Enzymzubereitungen eingesetzt werden.

Aus der europäischen Patentschrift EP 168 526 sind Enzymgranulate bekannt, die in Wasser quellfähige Stärke, Zeolith und wasserlösliches Granulierhilfsmittel enthalten. In diesem Dokument wird ein Herstellungsverfahren für derartige Formulierungen vorgeschlagen, das im wesentlichen darin besteht, eine von unlöslichen Bestandteilen befreite Fermenterlösung aufzukonzentrieren, mit den genannten Zuschlagstoffen zu versetzen und das entstandene Gemisch zu granulieren. Das Verfahren mit dem dort vorgeschlagenen Zuschlagstoffgemisch wird vorteilhaft mit Fermentationslösungen durchgeführt, die auf einen relativ hohen Trockensubstanzgehalt, beispielsweise 55 Gew.-%, aufkonzentriert worden sind. Außerdem weisen die derart hergestellten Granulate eine hohe Lösungs- beziehungsweise Zerfallsgeschwindigkeit unter Waschbedingungen auf, so daß die Enzyme unter Umständen relativ rasch deaktiviert werden.

Es bestand daher die Aufgabe, durch ein Herstellungsverfahren, das den Einsatz niedrigkonzentrierter Fermentationsbrühen erlaubt, die Pulvereigenschaften, insbesondere die gleichmäßige Löslichkeit der bekannten Produkte zu verbessern, die Aktivitätsverluste bei der Enzymverarbeitung weiter zu vermindern und die Lagerbeständigkeit der Enzyme noch weiter zu erhöhen. Diese Aufgabe wird durch die nachfolgend geschilderte Erfindung gelöst.

Die Erfindung betrifft ein für die Einarbeitung in Wasch- und Reinigungsmittel geeignetes Enzymgranulat mit einer Korngröße von 0,1 mm bis 2 mm, enthaltend 2 Gew.-% bis 20 Gew.-% Protease, Amylase und/oder Cellulase, berechnet als Trockensubstanz, 10 Gew.-% bis 50 Gew.-% quellfähige Stärke, 5 Gew.-% bis 50 Gew.-% Granulierhilfsmittel, das ein wasserlösliches or-

...

ganisches Polymer enthält, nicht über 10 Gew.-% wasserlösliches Salz und 3 Gew.-% bis 12 Gew.-% Wasser, das dadurch gekennzeichnet ist, daß es 10 Gew.-% bis 35 Gew.-% Getreidemehl enthält, und seine Verwendung zur Herstellung körniger Wasch- und Reinigungsmittel.

Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines derartigen Enzymgranulates durch Extrudieren eines durch Vermischen einer von unlöslichen Bestandteilen befreiten und aufkonzentrierten Fermentationsbrühe mit Zuschlagstoffen entstandenen Enzym-Vorgemischs, Sphäronisierung des Extrudats in einem Rondiergerät, Trocknung und gegebenenfalls Aufbringen eines Farbstoff oder Pigment enthaltenden Überzugs aus wasserlöslichem, filmbildendem Polymer, wobei das Verfahren dadurch gekennzeichnet ist, daß man die unlöslichen Bestandteile aus der Fermentationsbrühe durch Mikrofiltration entfernt und die aufkonzentrierte Fermentationsbrühe mit einem Zuschlagstoff vermischt, der 10 Gew.-% bis 35 Gew.-% Getreidemehl, bezogen auf fertiges Granulat, enthält.

Als Enzyme kommen in erster Linie die aus Mikroorganismen, wie Bakterien oder Pilzen, gewonnenen Proteasen, Lipasen, Amylasen und/oder Cellulasen in Frage, wobei von Bacillus-Arten erzeugte Proteasen sowie ihre Gemische mit Amylasen bevorzugt sind. Sie werden in bekannter Weise durch Fermentationsprozesse aus geeigneten Mikroorganismen gewonnen, die zum Beispiel in den deutschen Offenlegungsschriften DE 19 40 488, DE 20 44 161, DE 22 01 803 und DE 21 21 397, den US-amerikanischen Patentschriften US 3 632 957 und US 4 264 738 sowie der europäischen Patentanmeldung EP 006 638 beschrieben sind. Besonders vorteilhaft kann das erfindungsgemäße Verfahren zur Formulierung der sehr aktiven Proteasen der sogenannten zweiten Generation verwendet werden, zu denen beispielsweise Savinase^(R) und aus der internationalen Patentanmeldung WO 91/2792 bekannte Enzyme gehören, deren lagerstabile Einarbeitung in Wasch- und Reinigungsmittel in der Regel Probleme bereitet. Erfindungsgemäß ist es möglich, die bei den Fermentationsprozessen anfallenden Brühen extrazellulärer Enzyme nach Abtrennen der unlöslichen Begleitstoffe durch Mikrofiltration sowie nachfolgende Aufkonzentration durch Ultrafiltration und gegebenenfalls anschließendes Eindampfen im Vakuum unmittelbar in lagerbeständige, weitgehend geruchlose Granulate zu überführen. Die Entstehung unerwünschter En-

...

zymstäube und die bei zusätzlichen Trocknungsprozessen auftretenden Aktivitätsverluste werden vermieden.

Enzyme sind in den erfindungsgemäßen Granulaten vorzugsweise in Mengen von 4 Gew.-% bis 20 Gew.-% enthalten. Falls es sich bei dem erfindungsgemäßen Enzymgranulat um eine proteasehaltige Formulierung handelt, beträgt die Proteaseaktivität vorzugsweise 70 000 Proteaseeinheiten (PE, bestimmt nach der in Tenside Z (1970), 125 beschriebenen Methode) bis 250 000 PE, insbesondere 140 000 PE bis 200 000 PE, pro Gramm Enzymgranulat.

Bei der in Wasser quellfähigen Stärke handelt es sich vorzugsweise um Maisstärke, Reisstärke, Kartoffelstärke oder Gemische aus diesen, wobei der Einsatz von Maisstärke besonders bevorzugt ist. Quellfähige Stärke ist in den erfindungsgemäßen Enzymgranulaten in Mengen von 10 Gew.-% bis 50 Gew.-%, insbesondere von 20 Gew.-% bis 40 Gew.-% enthalten, wobei die Summe der Mengen der quellfähigen Stärke und des Mehls vorzugsweise nicht über 60 Gew.-%, insbesondere 32 Gew.-% bis 55 Gew.-% beträgt.

Bei dem erfindungsgemäß geeigneten Getreidemehl handelt es sich insbesondere um ein aus Weizen, Roggen, Gerste oder Hafer herstellbares Produkt oder um ein Gemisch dieser Mehle, wobei Vollkornmehle bevorzugt sind. Unter einem Vollkornmehl wird im Rahmen der Erfindung ein nicht voll ausgemahlenes Mehl verstanden, das aus ganzen, ungeschälten Körnern hergestellt worden ist oder zumindest überwiegend aus einem derartigen Produkt besteht, wobei der Rest aus voll ausgemahlenem Mehl beziehungsweise Stärke besteht. Vorzugsweise werden handelsübliche Weizenmehl-Qualitäten, wie Type 450 oder Type 550, eingesetzt. Auch die Verwendung von Mehlprodukten der zu vorgenannten quellfähigen Stärken führenden Getreidearten ist möglich, wenn darauf geachtet wird, daß die Mehle aus den ganzen Körnern hergestellt worden sind. Durch die Mehlkomponente des Zuschlagstoffgemisches wird eine wesentliche Geruchsreduzierung der Enzymzubereitung erreicht, welche die Geruchsverminderung durch die Einarbeitung gleicher Mengen entsprechender Stärkearten bei weitem übertrifft. Derartiges Getreidemehl ist in den erfindungsgemäßen Enzymgranulaten in Mengen von 10 Gew.-% bis 35 Gew.-%, insbesondere von 12 Gew.-% bis 25 Gew.-% enthalten.

...

Weiterhin enthalten die erfindungsgemäßen Enzymgranulate 5 Gew.-% bis 50 Gew.-%, vorzugsweise 15 Gew.-% bis 25 Gew.-% Granulierhilfsmittel, das mindestens ein wasserlösliches organisches Polymer enthält. Geeignete Verbindungen dieser Klasse sind zum Beispiel Cellulose- und Stärkeether, wie Carboxymethylcellulose, Carboxymethylstärke, Methylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Hydroxypropylcellulose sowie entsprechende Cellulosemischether. Gegebenenfalls können auch Gelatine, Casein, Traganth, Maltodextrose, Saccharose, Invertzucker, Glukosesirup oder andere in Wasser lösliche beziehungsweise gut dispergierbare Oligomere oder Polymere natürlichen Ursprungs verwendet werden. Brauchbare synthetische wasserlösliche Polymere sind Polyethylenglykol, Polyacrylate, Polymethacrylate, Copolymere der Acrylsäure mit Maleinsäure oder vinylgruppenhaltige Verbindungen, ferner Polyvinylalkohol, teilverseiftes Polyvinylacetat und Polyvinylpyrrolidon. Soweit es sich bei den vorgenannten Verbindungen um solche mit freien Carboxylgruppen handelt, liegen sie normalerweise in Form ihrer Natriumsalze vor.

Zusätzlich können die Enzymgranulate wasserunlösliche Granulierhilfsmittel enthalten, zu denen insbesondere Cellulose und Schichtsilikate, beispielsweise Bentonite oder Smectite, gehören.

Als besonders geeignet haben sich Kombinationen von 8 Gew.-% bis 20 Gew.-% Natriumcarboxymethylcellulose und 3 Gew.-% bis 10 Gew.-% Polyethylenglykol erwiesen, wobei letzteres ein Molekulargewicht von vorzugsweise 1000 bis 20 000, insbesondere von 2000 bis 15 000 aufweist. Die Natriumcarboxymethylcellulose setzt die Zerfalls- und Dispergiergeschwindigkeit der Granulate in kalten Waschlauge herab. Durch einen Zusatz von Polyethylenglykol kann diese Wirkung in Richtung auf eine höhere Auflösungsgeschwindigkeit verändert werden. Gleichzeitig erleichtert dieser Zusatz das Sphäronisieren der Granulate. Als zusätzliches Granulierhilfsmittel kann das erfindungsgemäße Granulat eine Kombination aus vorzugsweise 2 Gew.-% bis 10 Gew.-% Cellulose und vorzugsweise 2 Gew.-% bis 3 Gew.-% Saccharose oder eine Kombination aus vorzugsweise 2 Gew.-% bis 10 Gew.-% Cellulose und vorzugsweise 2 Gew.-% bis 5 Gew.-% einer Verbindung ausgewählt aus der Gruppe umfassend Sorbit, Maltodextrin, Polyvinylpyrrolidon, Amylogum und deren Gemische enthalten.

...

Als weitere Bestandteile können die Granulate noch geringe Mengen, vorzugsweise nicht über 10 Gew.-%, insbesondere 1 Gew.-% bis 10 Gew.-%, an wasserlöslichen Salzen enthalten, die so ausgewählt sind, daß sie die Lagerbeständigkeit der Enzyme nicht nachteilig beeinflussen. Diese Salze können die Zerfalls- und Dispergiergeschwindigkeit der Granulate insbesondere in kalten Waschlauge erhöhen. Geeignete Salze sind zum Beispiel Natriumchlorid, Natriumsulfat, Natriumacetat, Kaliumacetat oder deren Gemische.

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Enzymgranulate geht man von Fermentbrühen aus, die durch Mikrofiltration von unlöslichen Begleitstoffen befreit werden. Die Mikrofiltration wird dabei vorzugsweise als Querstrom-Mikrofiltration unter Verwendung poröser Rohre mit Mikroporen größer 0,1 µm, Fließgeschwindigkeiten der Konzentratlösung von mehr als 2 m/s und einem Druckunterschied zur Permeatseite von unter 5 bar durchgeführt, wie beispielsweise in der europäischen Patentanmeldung EP 200 032 beschrieben. Anschließend wird das Mikrofiltrationspermeat vorzugsweise durch Ultrafiltration, gegebenenfalls mit anschließender Vakuumeindampfung, aufkonzentriert. Ein besonderer Vorteil der Erfindung ist darin zu sehen, daß die Aufkonzentration so geführt werden kann, daß man nur zu relativ niedrigen Gehalten an Trockensubstanz von vorzugsweise 5 Gew.-% bis 50 Gew.-%, insbesondere von 10 Gew.-% bis 40 Gew.-% gelangt. Das Konzentrat wird einem zweckmäßigerweise zuvor hergestellten trockenen, pulverförmigen bis körnigen Gemisch der oben beschriebenen Zuschlagstoffe zudosiert. Der Wassergehalt der Mischung sollte so gewählt werden, daß sie sich bei der Bearbeitung mit Rühr- und Schlagwerkzeugen in körnige, bei Raumtemperatur nicht klebende Partikel überführen und bei Anwendung höherer Drücke plastisch verformen und extrudieren läßt.

Das rieselfähige Vorgemisch wird im Prinzip bekannter Weise anschließend in einem Knetter sowie einem angeschlossenen Extruder zu einer plastischen Masse verarbeitet, wobei als Folge der mechanischen Bearbeitung sich die Masse auf Temperaturen zwischen 40°C und 60°C, insbesondere 45°C bis 55°C erwärmen kann. Das den Extruder verlassende Gut wird durch eine Lochscheibe mit nachfolgendem Abschlagmesser geführt und dadurch zu zylinderförmigen Partikeln definierter Größe zerkleinert. Zweckmäßigerweise beträgt der

Durchmesser der Bohrungen in der Lochscheibe 0,4 mm bis 1 mm, vorzugsweise 0,5 mm bis 0,9 mm. Die in dieser Form vorliegenden Partikel können anschließend getrocknet und der späteren Verwendung zugeführt werden. Es hat sich jedoch als vorteilhaft erwiesen, die den Extruder und Zerkleinerer verlassenden zylindrischen Partikel anschließend zu sphäronisieren, das heißt sie in geeigneten Vorrichtungen abzurunden und zu entgraten. Ein solches Sphäronisierungsverfahren ist beispielsweise in den deutschen Auslegeschriften DE 21 37 042 und DE 21 37 043 beschrieben. Man verwendet hierzu eine Vorrichtung, die aus einem zylindrischen Behälter mit stationären, festen Seitenwänden und einer bodenseitig drehbar gelagerten Reibplatte bestehen. Vorrichtungen dieser Art sind unter der Warenbezeichnung Marumerizer(R) in der Technik verbreitet.

Nach der Sphäronisierung werden die noch feuchten Kügelchen kontinuierlich oder chargenweise, vorzugsweise unter Verwendung einer Wirbelschichttrockenanlage, bei vorzugsweise maximal 45 °C, insbesondere maximal 40 °C Produkt-Temperatur bis zu einem Restfeuchtegehalt von 3 Gew.-% bis 12 Gew.-%, vorzugsweise 6 Gew.-% bis 8 Gew.-% getrocknet. Nach oder vorzugsweise während der Trocknung können zusätzlich Stoffe zum Umhüllen und Beschichten der Partikel eingebracht werden. Geeignete Hüllstoffe sind insbesondere die Filmbildner unter den vorgenannten wasserlöslichen organischen Polymeren, vorzugsweise höhermolekulare, das heißt ein Molekulargewicht von 1 000 bis 20 000 aufweisende Polyethylenglykole. Weiterhin lassen sich in diesem Stadium auch Farbstoffe oder Pigmente auf die Partikel aufbringen, um so eine eventuelle Eigenfarbe, die meist vom Enzymkonzentrat herrührt, zu überdecken beziehungsweise zu verändern. Als inertes und physiologisch unbedenkliches Pigment hat sich insbesondere Titandioxid bewährt, das vorzugsweise in wäßriger Dispersion eingebracht wird. Das über die Pigmentdispersion beziehungsweise über die Polymer-Lösung zugeführte Wasser wird bei der gleichzeitig vorgenommenen oder anschließend erneut erforderlichen Trocknung wieder entfernt.

Durch Sieben oder Windsichten können eventuell auftretende staubförmige Anteile mit einer Korngröße unter 0,1 mm, vorzugsweise unter 0,2 mm sowie eventuelle Grobanteile mit einer Korngröße über 2 mm, vorzugsweise über 1,6 mm entfernt und gegebenenfalls in den Herstellungsprozess zurückge-

...

führt werden. Die erfindungsgemäßen Granulate enthalten vorzugsweise weniger als 5 Gew.-%, insbesondere höchstens 1 Gew.-% an Partikeln mit Korngrößen außerhalb des Bereichs von 0,2 mm bis 1,6 mm.

Die erhaltene Enzymzubereitung besteht aus weitgehend abgerundeten, staubfreien Partikeln, die in der Regel ein Schüttgewicht von etwa 500 bis 900 Gramm pro Liter, insbesondere 650 bis 880 Gramm pro Liter aufweisen. Sie wird vorzugsweise zur Herstellung von festen, insbesondere körnigen Wasch- oder Reinigungsmitteln verwendet. Ihre Enzymaktivität kann bei Einsatz von Protease-haltigen Fermenterbrühen, bedingt durch den flexiblen Trockensubstanzgehalt der Brühen vor dem Vermischen mit den Zuschlagstoffen, auf Werte im Bereich von vorzugsweise 70 000 bis 250 000 Proteaseeinheiten pro Gramm (PE/g), insbesondere von 140 000 bis 200 000 PE/g, eingestellt werden. Die erfindungsgemäßen Granulate zeichnen sich durch ihren geringen Eigengeruch und, auch im Gemisch mit Wasch- und Reinigungsmitteln sowie Perverbindungen, durch eine sehr hohe Lagerstabilität, insbesondere bei Temperaturen über Raumtemperatur und hoher Luftfeuchtigkeit, sowie ein gleichmäßiges Lösungsverhalten in der Waschflotte aus. Als weiterer Vorteil ist zu werten, daß die erfindungsgemäßen Enzymgranulate in Wasser bei 25 °C innerhalb von 2 Minuten vorzugsweise nicht mehr als 90 % und innerhalb von 5 Minuten vorzugsweise über 97 % ihrer Enzymaktivität freisetzen und somit eine ausreichend lange Einwirkzeit des Enzyms auf enzymatisch entfernbare Anschmutzungen, insbesondere in wäßrigen Wasch- oder Reinigungslaugen, gewährleisten.

Beispiele

Beispiel 1

Durch Fermentation von nach dem in der internationalen Patentanmeldung WO 91/2792 beschriebenen Verfahren durch Transformation einer Gensequenz aus *Bacillus lentus* DSM 5483 modifiziertem *Bacillus licheniformis* (ATCC 53926) analog dem in der deutschen Patentschrift DE 29 25 427 angegebenen Verfahren wurden 3,3 m³ einer biomassehaltigen Fermenterbrühe erhalten, die ca. 50 000 Proteaseeinheiten pro Gramm (PE/g) enthielt. Der pH-Wert der Fermenterbrühe wurde durch Zugabe von 33-gewichtsprozentiger CaCl₂-Lösung auf ca. 7,5 eingestellt. Anschließend wurden grobe Verunreinigungen durch Dekantieren entfernt. Die Brühe wurde mit Wasser auf ein Volumen von 11,5 m³ verdünnt. Die Abtrennung des Enzyms von der Zellmasse erfolgte mittels Querstrom-Mikrofiltration (Membranporendurchmesser 0,14 µm). Man erhielt etwa 24 m³ Mikrofiltrationspermeat mit ca. 7 000 PE/g. Durch Ultrafiltration (Trenngrenze bei Molekulargewicht 10 000) des enzymhaltigen Filtrats und anschließendes Eindampfen im Vakuum (50 mbar, Temperatur bis zu 30 °C) erhielt man 0,3 m³ einer Brühe F1 mit einem Trockensubstanzgehalt von 35 Gew.-% und einem Proteasegehalt von 500 000 PE/g. Aus gleichartigen Fermenterbrühen wurden durch analoges Vorgehen die Brühen F2 (28 Gew.-% Trockensubstanz, 480 000 PE/g), F3 (19 Gew.-% Trockensubstanz, 350 000 PE/g) und F4 (38 Gew.-% Trockensubstanz, 600 000 PE/g) erhalten. Die so aufkonzentrierten Fermenterbrühen F1 bis F4 wurden in einem mit rotierendem Schlagwerkzeug ausgerüsteten Mischer mit den in Tabelle 1 aufgeführten Zuschlägen vermischt und in einem mit einer Außenkühlung versehenen Knetter homogenisiert. Die Extrusion der plastischen Massen erfolgte mittels eines mit einer Lochscheibe (Lochdurchmesser 0,7 mm) und einem rotierenden Messer ausgerüsteten Extruder. Man erhielt die in Tabelle 1 durch ihre Zusammensetzung charakterisierten Extrudate E1 bis E5 mit Längen von 0,7 mm bis 1 mm, die in einer Sphäronisierungsvorrichtung (Marumerizer^(R)) während einer Bearbeitungszeit von etwa 5 Minuten unter gleichzeitigem Bestäuben mit pulverförmigem Calciumcarbonat (3 Gew.-%) zu abgerundeten Partikeln verformt und entgratet wurden. Das den Sphäronisator verlassende Gut wurde in einem Wirbelschichttrockner bei Temperaturen von 40 °C bis 45 °C innerhalb von etwa 15 Minuten auf einen Wassergehalt

...

von etwa 6 Gew.-% getrocknet. Durch anschließendes Sieben wurden Partikel mit Teilchengrößen unter 0,2 mm und über 1,6 mm weitgehend entfernt, die dem Prozeß auf der Stufe des Vermischens mit den Zuschlagstoffen wieder zugeführt wurden. Die Enzymgranulate wurden durch Aufsprühen einer wäßrigen Titandioxidpigment-Suspension und anschließendes Aufsprühen einer wäßrigen Polyethylenglykol-Lösung während der Wirbelschichttrocknung ge-coatet. Man erhielt so aus den Extrudaten E1 bis E5 die Endprodukte G1 bis G5 mit den in Tabelle 2 angegebenen Enzymaktivitäten.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Extrudate [Gew.-%]

	E1	E2	E3	E4	E5
F1	29,0	27,5	-	-	-
F2	-	-	28,0	-	-
F3	-	-	-	20,0	-
F4	-	-	-	-	30,0
Weizenmehl Type 450	13,0	20,0	25,0	12,8	20,0
Saccharose	2,5	2,5	2,5	3,0	2,5
Maisstärke	29,2	23,0	23,2	38,2	21,5
Natriumacetat	1,0	1,0	1,0	2,0	1,0
Zellulosepulver ^{a)}	3,3	3,0	3,3	3,0	3,0
Carboxymethylcellulose ^{b)}	15,0	17,0	12,0	15,0	17,0
Polyethylenglykol ^{c)}	7,0	6,0	5,0	6,0	5,0

a): Technocel(R) 30 (Hersteller Cellulose Füllstoff Fabrik)

b): Tylose(R) CR 1500 (Hersteller Hoechst)

c): Mittleres Molekulargewicht 2000

...

Tabelle 2: Enzymaktivität der Granulate [PE/g]

Granulat	hergestellt aus Extrudat	Enzymaktivität [PE/g]
G1	E1	145 000
G2	E2	137 500
G3	E3	134 400
G4	E4	70 000
G5	E5	180 000

Beispiel 2

Zur Bestimmung der Lösegeschwindigkeit wurde, wie in EP 168 526 beschrieben, 1 Gramm Enzymgranulat in 100 ml mittels Magnetrührer gerührtes Wasser von 16 °dH (160 mg CaO/l) bei 25 °C gegeben. Nach jeweils 1 Minute wurden Proben entnommen und deren Enzymaktivität nach Abfiltrieren ungelöster Bestandteile bestimmt. Die in Tabelle 3 angegebenen Bereiche ergaben sich aus 3 Bestimmungen, die Lösungsgeschwindigkeiten der gemäß Beispiel 1 hergestellten Granulate **G1** bis **G5** unterschieden sich nicht signifikant.

Tabelle 3: Geschwindigkeit der Enzymfreisetzung

Zeit [Minuten]	freigesetzte Aktivität [%]
1	60 - 70
2	83 - 86
3	93 - 97
5	100

...

Beispiel 3

2 Gramm des Enzymgranulats G2 wurden mit 98 Gramm eines handelsüblichen Vollwaschmittels (Perboratgehalt 18 Gew.-%) vermischt und in einem Kartonbehälter aus unkaschierter Pappe bei 30 °C und 80 % relativer Luftfeuchtigkeit gelagert. Zum Vergleich wurde eine Probe, welche die gleiche Menge eines handelsüblichen Granulats einer alkalischen Protease (Savina-se(R) 4.0 T, Hersteller Novo Industri A/S) enthielt, unter den gleichen Bedingungen gelagert. Die Proben wiesen nach Lagerungsdauern von 2 und 4 Wochen die in Tabelle 4 angegebenen Enzymaktivitäten (bezogen auf eingesetzte Aktivität = 100 %) auf. Die Aktivität der weiteren erfindungsgemäßen Enzymgranulate nach Beispiel 1 unterschieden sich nach Lagerung nicht signifikant von der des Granulats G2. Die Waschleistung des G2-haltigen Waschmittels gegenüber proteinhaltigen Anschmutzungen war derjenigen des Vergleichswaschmittels in keinem Fall unterlegen.

Tabelle 4: Lagerstabilität in einer Waschmittelformulierung (30 °C, 80 % relative Luftfeuchtigkeit)

Lagerungsdauer [Wochen]	Aktivität [Rel.-%]	
	G2	Vergleich
2	85	60
4	77	26

Patentansprüche

1. Für die Einarbeitung in Wasch- oder Reinigungsmittel geeignetes Enzymgranulat mit einer Korngröße von 0,1 mm bis 2 mm, enthaltend 2 Gew.-% bis 20 Gew.-% Protease, Lipase, Amylase und/oder Cellulase, berechnet als Trockensubstanz, 10 Gew.-% bis 50 Gew.-% quellfähige Stärke, 5 Gew.-% bis 50 Gew.-% Granulierhilfsmittel, das ein wasserlösliches organisches Polymer enthält, nicht über 10 Gew.-% wasserlösliches Salz und 3 Gew.-% bis 12 Gew.-% Wasser, dadurch gekennzeichnet, daß es 10 Gew.-% bis 35 Gew.-% Getreidemehl enthält.
2. Enzymgranulat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es 4 Gew.-% bis 20 Gew.-% Protease, Lipase, Amylase und/oder Cellulase, insbesondere Protease, 20 Gew.-% bis 40 Gew.-% quellfähige Stärke, insbesondere Reisstärke, 15 Gew.-% bis 40 Gew.-% Granulierhilfsmittel und 12 Gew.-% bis 25 Gew.-% Getreidemehl enthält, wobei die Summe der Mengen der quellfähigen Stärke und des Mehls nicht über 60 Gew.-%, insbesondere 32 Gew.-% bis 55 Gew.-% beträgt.
3. Enzymgranulat nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Mehl aus der Gruppe umfassend Weizenmehl, Roggenmehl, Gerstenmehl, Hafermehl und deren Gemische ausgewählt wird.
4. Enzymgranulat nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß es Protease mit einer Aktivität von 70 000 PE bis 250 000 PE, insbesondere 140 000 PE bis 200 000 PE, pro Gramm Enzymgranulat enthält.
5. Enzymgranulat nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß es als Granulierhilfsmittel 8 Gew.-% bis 20 Gew.-% Carboxymethylcellulose und 3 Gew.-% bis 10 Gew.-% Polyethylenglykol mit einem mittleren Molekulargewicht von 1000 bis 20 000 enthält.

...

6. Enzymgranulat nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß es als zusätzliches Granulierhilfsmittel eine Kombination aus 2 Gew.-% bis 10 Gew.-% Cellulose und 2 Gew.-% bis 3 Gew.-% Saccharose oder eine Kombination aus 2 Gew.-% bis 10 Gew.-% Cellulose und 2 Gew.-% bis 5 Gew.-% einer Verbindung ausgewählt aus der Gruppe umfassend Sorbit, Maltodextrin, Polyvinylpyrrolidon, Amylogum und deren Gemische enthält.
7. Enzymgranulat nach Anspruch 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, daß es als zusätzliches Granulierhilfsmittel nicht über 10 Gew.-% Schichtsilikat enthält und die Summe der Mengen an Schichtsilikat und Carboxymethylcellulose nicht über 20 Gew.-% beträgt.
8. Enzymgranulat nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß es 1 Gew.-% bis 3 Gew.-% eines wasserlöslichen Salzes, das ein Alkalichlorid, ein Alkalisulfat, ein Alkaliacetat oder ein Gemisch aus diesen ist, enthält.
9. Enzymgranulat nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß es mit einem Farbstoff oder Pigment enthaltenden Überzug aus wasserlöslichem, filmbildendem Polymer überzogen ist.
10. Enzymgranulat nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß es weniger als 5 Gew.-%, vorzugsweise höchstens 1 Gew.-% an Partikeln mit Korngrößen außerhalb des Bereichs von 0,2 mm bis 1,6 mm aufweist.
11. Enzymgranulat nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß es in Wasser bei 25 °C innerhalb von 2 Minuten nicht mehr als 90 % und innerhalb von 5 Minuten über 97 % seiner Enzymaktivität freisetzt.
12. Verfahren zur Herstellung eines Enzymgranulates mit einer Korngröße von 0,1 mm bis 2 mm, die 2 Gew.-% bis 20 Gew.-% Protease, Lipase, Amylase und/oder Cellulase, berechnet als Trockensubstanz, 10 Gew.-% bis 50 Gew.-% quellfähige Stärke, 5 Gew.-% bis 50 Gew.-% Granulier-

...

hilfsmittel, das ein wasserlösliches organisches Polymer enthält,, 3 Gew.-% bis 12 Gew.-% Wasser und nicht über 10 Gew.-% wasserlösliches Salz enthalten, durch Extrudieren eines durch Vermischen einer von unlöslichen Bestandteilen befreiten und aufkonzentrierten Fermentationsbrühe mit Zuschlagstoffen entstandenen Enzym-Vorgemischs, Sphäronisierung des Extrudats in einem Rondiergerät, Trocknung und gegebenenfalls Aufbringen eines Farbstoff oder Pigment enthaltenden Überzugs aus wasserlöslichem, filmbildendem Polymer, dadurch gekennzeichnet, daß man die unlöslichen Bestandteile aus der Fermentationsbrühe durch Mikrofiltration entfernt und die aufkonzentrierte Fermentationsbrühe mit einem Zuschlagstoff vermischt, der 10 Gew.-% bis 35 Gew.-% Getreidemehl, bezogen auf fertiges Granulat, enthält.

13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß das Mehl aus der Gruppe umfassend Weizenmehl, Roggenmehl, Gerstenmehl, Hafermehl und deren Gemische ausgewählt wird.
14. Verwendung eines Enzymgranulats gemäß einem der Ansprüche 1 bis 11 zur Herstellung fester, insbesondere körniger Wasch- und Reinigungsmittel.

7

An enzyme preparation for detergents

This invention relates to enzyme granules, to a process for their production and to their use in solid detergents.

Enzymes, particularly proteases, are widely used in detergents, washing aids and cleaning products. In general, the enzymes are used not in the form of concentrates, but in the form of mixtures with a diluent and carrier material. If enzyme preparations such as these are mixed with standard detergents, a considerable reduction in enzyme activity can occur during storage, particularly if bleaching-active compounds are present. Application of the enzymes to carrier salts accompanied by granulation in accordance with DE-OS 16 17 190 or bonding with nonionic surfactants in accordance with DE-OS 16 17 118 or aqueous solutions of cellulose ethers in accordance with the DE-OS 17 87 568 does not produce a significant improvement in storage life because the sensitive enzymes in mixtures such as these are generally present on the surface of the carrier. Although the stability of the enzymes in storage can be significantly increased by encapsulating the enzymes with or embedding them in the carrier material and subsequently converting them into the desired particle form by extrusion, pressing and marumerizing, as described for example in DE-PS 16 17 232, in DE-OS 20 32 768 and in DE-ASS 21 37 042 and 21 37 043, enzyme preparations of this type show unsatisfactory solubility properties. The undissolved particles can become caught up in the washing and can soil it or can be discharged into the wastewater without being used. Although the encapsulating agents known from DE-OS 18 03 099, which consist of a mixture of solid acids or acidic salts and carbonates or bicar-

THIS PAGE BLANK (USPTO)

bonates and which disintegrate on addition of water, improve the solubility of enzyme preparations, they are extremely sensitive to moisture and, accordingly, require additional protective measures.

5 Another disadvantage of the preparation mentioned above is that the enzymes can only be processed in the form of dry powders. The fermenter broths typically formed in the production of the enzyme preparations cannot be used in this form, but instead have to be
10 freed from water beforehand. The same is also a precondition in processes where only readily soluble carrier materials, such as sugars, starch and cellulose ethers, are used as binders in the production of enzyme preparations.

15 EP 168 526 describes enzyme granules containing starch swellable in water, zeolite and water-soluble granulation aids. This document discloses a process for the production of such formulations which essentially comprises concentrating a fermenter solution freed from
20 insoluble constituents, introducing the additives mentioned and granulating the resulting mixture. The process with the proposed additive mixture is advantageously carried out with fermentation solutions which have been concentrated to a relatively high dry matter
25 content, for example 55% by weight. In addition, the granules thus produced are highly soluble and disintegrate rapidly under washing conditions so that the enzymes can be deactivated relatively quickly.

 Accordingly, the problem addressed by the present
30 invention was to provide a production process in which it would be possible to use fermentation broths of low concentration, to improve the powder properties of the known products, particularly their uniform solubility, further to reduce the losses of activity during proces-
35 sing of the enzymes and further to increase the stabil-

THIS PAGE

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ity of the enzymes in storage. This problem has been solved by the present invention which is described in detail hereinafter.

5 The present invention relates to enzyme granules suitable for incorporation in detergents with a particle size of 0.1 mm to 2 mm and containing 2% by weight to 20% by weight protease, amylase and/or cellulase, expressed as dry matter, 10% by weight to 50% by weight swellable starch, 5% by weight to 50% by weight of a
10 granulation aid containing a water-soluble organic polymer, not more than 10% by weight water-soluble salt and 3% by weight to 12% by weight water, characterized in that the enzyme granules contain 10% by weight to 35% by weight cereal flour, and to the use of the granules
15 for the production of granular detergents.

The present invention also relates to a process for the production of the enzyme granules by extruding an enzyme premix prepared by mixing a fermentation broth freed from insoluble constituents and concentrated with
20 additives, spheronizing the extrudate in a spheronizer, drying and optionally applying a dye- or pigment-containing coating of water-soluble film-forming polymer, characterized in that the insoluble constituents are removed from the fermentation broth by microfiltration and the concentrated fermentation broth is mixed with an
25 additive containing 10% by weight to 35% by weight cereal flour, based on the final granules.

Suitable enzymes are above all the proteases, lipases, amylases and/or cellulases obtained from micro-
30 organisms, such as bacteria or fungi, proteases produced by bacillus species and mixtures thereof with amylases being preferred. They are obtained in known manner by fermentation processes from suitable microorganisms which are described, for example, in DE-OSS 19 40 488,
35 20 44 161, 22 01 803 and 21 21 397, in US-PSS 3,632,957

THIS PAGE BLANK (USPTO)

and 4,264,738 and in European patent application EP 006 638. The process according to the invention may be used with particular advantage for formulating highly active, so-called second generation proteases including, for example, Savinase® and enzymes known from International patent application WO 91/2792, of which the storable incorporation in detergents is generally problematical. According to the invention, the broths of extracellular enzymes accumulating in the fermentation processes may be directly converted into storable, substantially odorless granules after separation of the insoluble constituents by microfiltration and subsequent concentration by ultrafiltration and, optionally, subsequent concentration by evaporation in vacuo. The formation of unwanted enzyme dusts and the losses of activity occurring in additional drying processes are avoided.

Enzymes are preferably present in the granules according to the invention in quantities of 4% by weight to 20% by weight. If the enzyme granules according to the invention are based on a protease-containing formulation, the protease activity is preferably 70,000 protease units (PU, as determined by the method described in Tenside 7 (1970), 125) to 250,000 PU and, more preferably, 140,000 PU to 200,000 PU per gram enzyme granules.

The starch swellable in water is preferably cornstarch, rice starch, potato starch or mixtures thereof, cornstarch being particularly preferred. Swellable starch is present in the enzyme granules according to the invention in quantities of 10% by weight to 50% by weight and more particularly in quantities of 20% by weight to 40% by weight, the sum total of the quantities of swellable starch and flour preferably being no more than 60% by weight and, more particularly, between 32% by weight and 55% by weight.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

The cereal flour suitable for use in accordance with the invention is in particular a product obtainable from wheat, barley, rye or oats or a mixture of such flours, whole grain flours being preferred. In the context of the invention, a whole grain flour is understood to be a flour which has not been fully ground and which has been whole unshelled grains or which consist at least predominantly of such a product, the remainder consisting of fully ground flour or starch. Commercial wheat flours, for example of the 450 or 550 type, are preferably used. It is also possible to use flours of the cereals leading to the swellable starches mentioned above providing the flours have been produced from the whole grains. The flour component of the additive mixture provides for a considerable reduction in the odor of the enzyme preparation far exceeding the reduction in odor achieved by incorporation of the same quantities of corresponding starches. The cereal flour is present in the enzyme granules according to the invention in quantities of 10% by weight to 35% by weight and, more particularly, in quantities of 12% by weight to 25% by weight.

In addition, the enzyme granules according to the invention contain 5% by weight to 50% by weight and preferably 15% by weight to 25% by weight of a granulation aid which contains at least one water-soluble organic polymer. Suitable compounds of this class are, for example, cellulose and starch ethers, such as carboxymethyl cellulose, carboxymethyl starch, methyl cellulose, hydroxyethyl cellulose, hydroxypropyl cellulose and corresponding cellulose mixed ethers. Gelatine, casein, tragacanth, maltodextrose, sucrose, invert sugar, glucose sirup or other water-soluble or readily dispersible oligomers or polymers of natural origin may also be used. Suitable synthetic water-

soluble polymers are polyethylene glycol, polyacrylates, polymethacrylates, copolymers of acrylic acid with maleic acid or vinyl-functional compounds and also polyvinyl alcohol, partly saponified polyvinyl acetate and polyvinyl pyrrolidone. If the compounds mentioned above are those containing free carboxyl groups, they are normally present in the form of their sodium salts.

The enzyme granules may also contain water-insoluble granulation aids, including in particular cellulose and layer silicates, for example bentonites or smectites.

Combinations of 8% by weight to 20% by weight sodium carboxymethyl cellulose and 3% by weight to 10% by weight polyethylene glycol having a molecular weight of preferably 1000 to 20,000 and more preferably 2000 to 15,000 have proved to be particularly suitable. The sodium carboxymethyl cellulose reduces the disintegration and dispersion rate of the granules in cold wash liquors. This effect can be modified by an addition of polyethylene glycol to achieve a higher dissolving rate. At the same time, this addition makes the granules easier to spheronize. The granules according to the invention may contain a combination of preferably 2% by weight to 10% by weight cellulose and preferably 2% by weight to 3% by weight sucrose or a combination of preferably 2% by weight to 10% by weight cellulose and preferably 2% by weight to 5% by weight of a compound selected from the group consisting of sorbitol, maltodextrin, polyvinyl pyrrolidone, amylogum and mixtures thereof as the additional granulation aid.

The granules may contain as further constituents small quantities of preferably not more than 10% by weight and, more particularly, between 1% by weight and 10% by weight of water-soluble salts which are selected so that they do not adversely affect the stability of

THIS PAGE BLANK (USPTO)

the enzymes in storage. These salts increase the disintegration and dispersion rate of the granules, particularly in cold wash liquors. Suitable salts are, for example, sodium chloride, sodium sulfate, sodium acetate, potassium acetate or mixtures thereof.

The enzyme granules according to the invention are produced from fermenter broths which are freed from insoluble constituents by microfiltration. The microfiltration process is preferably carried out as cross-flow microfiltration using porous tubes with micropores larger than 0.1 μm , flow rates of the concentrate solution or more than 2 m/s and a pressure difference relative to the permeate side of less than 5 bar, as described for example in European patent application EP 200 032. The microfiltration permeate is then concentrated, preferably by ultrafiltration optionally followed by evaporation in vacuo. One particular advantage of the invention is that the concentration phase can be carried out in such a way that only relatively low dry matter contents of preferably 5% by weight to 50% by weight and, more preferably, 10% by weight to 40% by weight are obtained. The concentrate is added to a dry powder-form to granular mixture of the additives described above which is best prepared beforehand. The water content of the mixture should be selected so that it can be converted into granular particles which are non-tacky at room temperature by treatment with stirring and beating tools and can be plastically deformed and extruded by application of relatively high pressures.

The free-flowing premix is then processed in a kneader and an adjoining extruder in basically known manner to form a plastic mass which can assume temperatures of 40°C to 60°C and, more particularly, 45°C to 55°C as a result of the mechanical treatment. The material leaving the extruder is passed through a

THIS PAGE BLANK (USPTO)

perforated disk followed by a cutting blade so that it is size-reduced to cylindrical particles of defined size. The diameter of the holes in the perforated disk is 0.4 mm to 1 mm and preferably 0.5 mm to 0.9 mm. The particles present in this form may then be dried and put their intended use. However, it has proved to be of advantage subsequently to spheronize the cylindrical particles leaving the extruder and cutter, i.e. to round off and deflash the particles in suitable units. One such spheronizing process is described, for example, in DE-A88 21 37 042 and 21 37 043. An arrangement consisting of a cylindrical container with fixed side walls and a friction plate rotatably mounted at its base is used for this purpose. Machines of this type are commercially available under the name of Marumerizer®.

After the spheronizing step, the beads which are still moist are dried continuously or in batches to a residual moisture content of 3% by weight to 12% by weight and preferably 6% by weight to 8% by weight at a maximum product temperature of preferably 45°C and, more particularly, 40°C, preferably using a fluidized-bed dryer. Substances for encapsulating and coating the particles may be additionally introduced after or preferably during the drying step. Suitable encapsulating materials are, in particular, the film formers among the water-soluble organic polymers mentioned above, preferably polyethylene glycols of relatively high molecular weight, i.e. polyethylene glycols having a molecular weight of 1000 to 20,000. In addition, dyes or pigments may also be applied to the particles at this stage in order to mask or modify any color which may be present - generally from the enzyme concentrate. Titanium dioxide in particular has proved to be an inert and physiologically safe pigment and is preferably introduced in the form of an aqueous dispersion. The water

THIS PAGE BLANK (USPTO)

introduced through the pigment dispersion or through the polymer solution is removed again during the drying step carried out at the same time or repeated thereafter.

Any dust-fine fractions with a particle size of less than 0.1 mm and preferably less than 0.2 mm and coarse fractions with a particle size of more than 2 mm and preferably more than 1.6 mm may be removed by sieving or air separation and optionally returned to the production process. The granules according to the invention preferably contain less than 5% by weight and, more particularly, at most 1% by weight particles with sizes outside the 0.2 mm to 1.6 mm range.

The enzyme preparation obtained consists of largely rounded dust-free particles which generally have an apparent density of approximately 500 to 900 grams per liter and, more particularly, 650 to 880 grams per liter. They are preferably used for the production of solid, more particularly granular, detergents or cleaning products. Where protease-containing fermenter broths are used, their enzyme activity can be adjusted to values of preferably 70,000 to 250,000 protease units per gram (PU/g) and, more preferably, 140,000 to 200,000 PU/g by virtue of the flexible dry matter content of the broths before mixing with the additives. The granules according to the invention are distinguished by their faint odor and, even in admixture with detergents and per compounds, by very high stability in storage, particularly at temperatures above room temperature and in atmospheres of high humidity, and by uniform solubility in the wash liquor. Another advantage is that the enzyme granules according to the invention develop preferably no more than 90% of their enzyme activity in 2 minutes and preferably more than 97% of their enzyme activity in 5 minutes in water at 25°C, thus guaranteeing a sufficiently long contact time of the enzyme on

THIS PAGE BLANK (USPTO)

enzymatically removable soil, particularly in water-containing wash liquors or cleaning liquors.

Examples

5

Example 1

3.3 m³ of a biomass-containing fermenter broth containing approx. 50,000 protease units per gram (PU/g) were obtained by fermentation of *Bacillus licheniformis* (ATCC 53926) - modified by the process described in International patent application WO 91/2792 by transformation of a gene sequence from *Bacillus lentus* DSM 5483 - by the process described in DE-PS 29 25 427. The pH value of the fermenter broth was adjusted to approx. 7.5 by addition of 33% by weight CaCl₂ solution. Coarse impurities were then removed by decantation. The broth was diluted with water to a volume of 11.5 m³. The enzyme was separated from the cell mass by crossflow microfiltration (membrane pore diameter 0.14 μm). Approximately 24 m³ microfiltration permeate containing approx. 7,000 PU/g was obtained. 0.3 m³ of a broth F1 having a dry matter content of 35% by weight and a protease content of 500,000 PU/g was obtained by ultrafiltration (cutoff limit at molecular weight 10,000) of the enzyme-containing filtrate and subsequent concentration by evaporation in vacuo (50 mbar, temperature up to 30°C). The broths F2 (dry matter content 28% by weight, 480,000 PU/g), F3 (dry matter content 19% by weight, 350,000 PU/g) and F4 (dry matter content 38% by weight, 600,000 PU/g) were similarly obtained from fermenter broths of the same type. The fermenter broths F1 to F4 thus concentrated were mixed with the additives listed in Table 1 in a mixer equipped with a rotating beating tool and homogenized in a kneader provided with external cooling. The plastic compounds were extruded in an

THIS PAGE BLANK (USPTO)

extruder equipped with a perforated disk (hole diameter 0.7 mm) and a rotating blade. The 0.7 mm to 1 mm long extrudates E1 to E5 characterized by their composition in Table 1 were obtained and were converted into spherical particles and deflashed in a spheronizer (Marumerizer®) over a period of about 5 minutes during which they were dusted with powder-form calcium carbonate (3% by weight). The material leaving the spheronizer was dried for 15 minutes at 40 to 45°C in a fluidized bed dryer to a water content of approximately 6% by weight. Particles smaller than 0.2 mm and larger than 1.6 mm in size were largely removed by subsequent sieving and were returned to the process at the stage comprising mixing with the additives. The enzyme granules were coated by spraying with an aqueous titanium dioxide pigment suspension and then with an aqueous polyethylene glycol solution during fluidized-bed drying. The end products G1 to G5 having the having the enzyme activities shown in Table 2 were thus obtained from the extrudates E1 to E5.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Table 1:

Composition of the extrudates [% by weight]

	E1	E2	E3	E4	E5
F1	29.0	27.5	-	-	-
F2	-	-	28.0	-	-
F3	-	-	-	20.0	-
F4	-	-	-	-	30.0
Wheat flour, type 450	13.0	20.0	25.0	12.8	20.0
Sucrose	2.5	2.5	2.5	3.0	2.5
Cornstarch	29.2	23.0	23.2	38.2	21.5
Sodium acetate	1.0	1.0	1.0	2.0	1.0
Cellulose powder ^{a)}	3.3	3.0	3.3	3.0	3.0
Carboxymethyl cellulose ^{b)}	15.0	17.0	12.0	15.0	17.0
Polyethylene glycol ^{c)}	7.0	6.0	5.0	6.0	5.0

a): Technocel® 30 (a product of Cellulose Füllstoff Fabrik)

b): Tylose® CR 1500 (a product of Hoechst)

c): Average molecular weight 2000

Table 2:

Enzyme activity of the granules [PU/g]

Granules	Produced from extrudate	Enzyme activity [PU/g]
G1	E1	145,000
G2	E2	137,500
G3	E3	134,400
G4	E4	70,000
G5	E5	180,000

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Example 2

To determine the dissolving rate, 1 g enzyme granules was introduced into 100 ml water stirred by a magnetic stirrer and having a hardness of 16°Gh (160 mg CaO/l) at 25°C, as described in EP 168 526. Samples were taken at 1 minute intervals and their enzyme activity was determined after undissolved constituents had been filtered off. The ranges shown in Table 3 are the result of three determinations; there was no significant difference in the dissolving rates of granules G1 to G5 produced in accordance with Example 1.

Table 3:

Enzyme release rate

Time [minutes]	Activity released [%]
1	60 - 70
2	83 - 86
3	93 - 97
5	100

Example 3

2 Grams of enzyme granules G2 were mixed with 98 grams of a commercial perborate-containing detergent (perborate content 18% by weight) and the resulting mixture was stored in a carton of unlined paperboard at 30°C/80% relative air humidity. For comparison, a sample containing the same quantity of commercial granules of an alkaline protease (Savinase® 4.0 T, a product of Novo Industri A/S) was stored under the same conditions. After storage for 2 weeks and 4 weeks, the samples had the enzyme activities shown in Table 4 (based on the starting activity = 100%). The activity

THIS PAGE BLANK (USPTO)

of the other enzyme granules of Example 1 according to the invention did not differ significantly from that of the granules G2 after storage. In no case was the washing performance of the G2-containing detergent with respect to protein-containing soil inferior to that of the comparison detergent.

Table 4:

Stability in storage in a detergent formulation (30°C/
80% relative air humidity)

Storage time [weeks]	Activity [rel-%]	
	G2	Comparison
2	85	60
4	77	26

THIS PAGE BLANK (USPTO)

CLAIMS

1. Enzyme granules suitable for incorporation in detergents with a particle size of 0.1 mm to 2 mm and containing 2% by weight to 20% by weight protease,
5 lipase, amylase and/or cellulase, expressed as dry matter, 10% by weight to 50% by weight swellable starch, 5% by weight to 50% by weight of a granulation aid containing a water-soluble organic polymer, not more than 10% by weight water-soluble salt and 3% by weight
10 to 12% by weight water, characterized in that the enzyme granules contain 10% by weight to 35% by weight cereal flour.
2. Enzyme granules as claimed in claim 1, characterized in that they contain 4% by weight to 20% by
15 weight protease, lipase, amylase and/or cellulase, more especially protease, 20% by weight to 40% by weight swellable starch, more especially rice starch, 15% by weight to 40% by weight granulation aid and 12% by weight to 25% by weight cereal flour, the sum total of
20 the quantities of swellable starch and flour being no more than 60% by weight and, more particularly, between 32% by weight and 55% by weight.
3. Enzyme granules as claimed in claim 1 or 2, characterized in that the flour is selected from the
25 group consisting of wheat flour, rye flour, barley flour, oat flour and mixtures thereof.
4. Enzyme granules as claimed in any of claims 1 to 3, characterized in that they contain protease having an activity of 70,000 PU to 250,000 PU and, more particu-
30 larly, 140,000 PU to 200,000 PU per gram enzyme granules.
5. Enzyme granules as claimed in any of claims 1 to 4, characterized in that they contain 8% by weight to 20% by weight carboxymethyl cellulose and 3% by weight
35 to 10% by weight polyethylene glycol having an average

THIS PAGE BLANK (USPTO)

molecular weight of 1000 to 20,000 as the granulation aid.

6. Enzyme granules as claimed in claim 5, characterized in that they contain a combination of 2% by weight to 10% by weight cellulose and 2% by weight to 3% by weight sucrose or a combination of 2% by weight to 10% by weight cellulose and 2% to 5% by weight of a compound selected from the group consisting of sorbitol, maltodextrin, polyvinyl pyrrolidone, amylogum and mixtures thereof as the additional granulation aid.

7. Enzyme granules as claimed in claim 5 or 6, characterized in that they contain no more than 10% by weight layer silicate as the additional granulation aid, the sum total of the quantities of layer silicate and carboxymethyl cellulose not exceeding 20% by weight.

8. Enzyme granules as claimed in any of claims 1 to 7, characterized in that they contain 1% by weight to 3% by weight of a water-soluble salt containing an alkali metal chloride, an alkali metal sulfate, an alkali metal acetate or a mixture thereof.

9. Enzyme granules as claimed in any of claims 1 to 8, characterized in that they are coated with a dye- or pigment-containing coating of water-soluble film-forming polymer.

10. Enzyme granules as claimed in any of claims 1 to 9, characterized in that they contain less than 5% by weight and preferably at most 1% by weight particles having particle sizes outside the 0.2 mm to 1.6 mm range.

11. Enzyme granules as claimed in any of claims 1 to 10, characterized in that they release no more than 90% of their enzyme activity in 2 minutes and more than 95% of their enzyme activity in 5 minutes in water at 25°C.

12. A process for the production of enzyme granules with a particle size of 0.1 mm to 2 mm and containing 2%

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- by weight to 20% by weight protease, lipase, amylase and/or cellulase, expressed as dry matter, 10% by weight to 50% by weight swellable starch, 5% by weight to 50% by weight of a granulation aid containing a water-soluble organic polymer, 3% by weight to 12% by weight water and not more than 10% by weight water-soluble salt by extruding an enzyme premix prepared by mixing a fermentation broth freed from insoluble constituents and concentrated with additives, spheronizing the extrudate in a spheronizer, drying and optionally applying a dye- or pigment-containing coating of water-soluble film-forming polymer, characterized in that the insoluble constituents are removed from the fermentation broth by microfiltration and the concentrated fermentation broth is mixed with an additive containing 10% by weight to 35% by weight cereal flour, based on the final granules.
13. A process as claimed in claim 12, characterized in that the flour is selected from the group consisting of wheat flour, rye flour, barley flour, oat flour and mixtures thereof.
14. The use of the enzyme granules claimed in any of claims 1 to 11 for the production of solid, more particularly granular, detergents and cleaning products.

THIS PAGE BLANK (USPTO)